



TITLE:

自然免疫アダプター分子TRIFを介した抗ウイルスシグナル伝達経路の機能解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

阿部, 寛登

CITATION:

阿部, 寛登. 自然免疫アダプター分子TRIFを介した抗ウイルスシグナル伝達経路の機能解析. 京都大学, 2020, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22595>

RIGHT:

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	阿部 寛登
論文題目	自然免疫アダプター分子 TRIF を介した抗ウイルスシグナル伝達経路の機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>自然免疫系は、生体内へウイルスや細菌が感染した際、それらの病原体が有する分子パターンを認識する受容体の活性化を通して細胞内シグナル伝達を行うことにより惹起される。Toll/interleukin-1 receptor (TIR)-domain-containing adapter-inducing interferon-β (TRIF)は、自然免疫系において I 型インターフェロンの転写因子 Interferon regulatory factor-3 (IRF-3)を活性化する Toll-like receptor 3 及び 4 (TLR3/4)シグナル伝達に必要な不可欠なアダプター分子である。しかし、TRIF がどのように IRF-3 を活性化させるか、その制御機構については未だ明らかとなっていない。そこで、本研究では TLR3 及び TLR4 シグナル伝達経路における IRF-3 活性化の分子機構について調べた。</p> <p>先行研究から、TRIF には IRF-3 の活性化に必要な pLxIS モチーフというアミノ酸配列があることが示されていた。そこで本研究では pLxIS モチーフの機能をさらに詳細に調べた。その結果、人工二本鎖 RNA である Poly (I:C)添加による TLR3 の活性化が、TRIF の pLxIS モチーフに含まれる Ser210 のリン酸化を誘導することを見出した。さらに、このリン酸化が IRF-3 を TRIF へリクルートし活性化させるのに必要であることを明らかにした。TANK-binding kinase-1 (TBK1)は IRF-3 のリン酸化酵素として知られているが、一方で TBK1 は TLR3 刺激に応答して TRIF の Ser210 をリン酸化することが判明した。</p> <p>また、細胞への阻害剤添加及び CRISPR-Cas9 システムによる遺伝子欠損により、リン酸化酵素 IκB kinase-β (IKKβ)が TLR3/4 シグナル伝達による IRF-3 の活性化において必須の役割を果たすことを新たに発見した。このことはこの系が NFκB シグナルとクロストーク関係にあることを示唆している。注目すべきことに、IKK β は TLR3/4 シグナルに必須である一方で、RIG-I-like receptor (RLR)シグナルによる IRF-3 の活性化には関与していないことも明らかとなった。免疫共沈降法により、IKKβは TLR3 刺激に応答して TBK1 と一時的な相互作用を形成し、TBK1 のプライミングリン酸化及び TBK1 の TRIF へのリクルートを誘導することが見出された。さらに、IKKβの制御因子として知られていた NF-κB-essential modulator (NEMO)が、本研究で見出された TLR3 シグナルにおける IKKβの機能にも必要であることが判明した。</p> <p>これらの結果は、TLR3/4 シグナル経路を構成する分子群が IKKβ及び TBK1 によりもたらされる一連のリン酸化カスケードによりシグナルを伝達することを示しており、NEMO-IKKβによる TBK1 のプライミングリン酸化は、TLR3/4 シグナル伝達において TRIF への TBK1 及び IRF-3 のリクルートを誘導し、IRF-3 を活性化させることが明らかとなった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

自然免疫系の中心分子であるToll様受容体(TLR)は、生体内に侵入した病原体を認識すると細胞内シグナル伝達を介して生体防御応答を誘発する。TLRファミリーのうちTLR3及びTLR4の刺激は、下流のアダプター分子であるTRIFを経由してTBK1キナーゼを活性化し、このTBK1が転写因子IRF-3をリン酸化することにより活性化させることで、インターフェロン- β 発現が誘導される。しかし、このシグナル伝達経路においてTRIFがどのようにIRF-3を活性化させるかの詳細は明らかではなかった。申請者はこの研究課題に基づき、TLR3及びTLR4シグナル伝達経路におけるIRF-3活性化の分子機構について調べた。

申請者は、TRIFにはIRF-3のリクルート及び活性化に必要なpLxISモチーフという配列が存在するという先行研究に基づき、このモチーフの機能をさらに詳細に調べた。その結果、リガンド刺激によるTLR3の活性化が、TRIFのpLxISモチーフに含まれるセリン残基のリン酸化を誘導し、このリン酸化を介してIRF-3がTRIFへリクルートされることを実証した。また、このセリン残基がTBK1によりリン酸化されることを、TBK1欠損細胞にTBK1キナーゼ不活性化変異体を再構成させることで証明した。

一方で申請者は、研究の中で新たにリン酸化酵素IKK β がTLR3及びTLR4シグナルによるIRF-3の活性化において必須の役割を果たすことを発見した。注目すべきことに、IKK β はTLR3/4シグナルに必須である一方で、RNAウイルス感染により活性化するRIG-IシグナルによるIRF-3の活性化には必要ではなかった。また、IKK β の活性を制御するNEMOもTLR3/4シグナルに必須であった。免疫沈降による相互作用解析から、TLR3シグナルによるIKK β の活性化はTBK1/IKK β の一時的な相互作用を形成させ、TBK1のプライミングリン酸化によるTBK1の自己リン酸化を誘導することが示され、TBK1のリン酸化はTRIFとの相互作用に必要であることも新たに明らかにした。

申請者はこれらの結果から、IKK β によるTBK1のプライミングリン酸化がTLR3/4シグナル伝達においてTRIFへのTBK1及びIRF-3のリクルートを誘導し、IRF-3の活性化に至らしむことを明らかにした。本論文では生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文としての評価基準を満たすものと判断した。さらに、令和2年1月23日に行われた論文公聴会とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日